

INFECÇÃO SIMULTÂNEA PELO VÍRUS DA DIARRÉIA BOVINA A VÍRUS E *BABESIA BOVIS* EM BEZERRA RECÉM-NASCIDA

MARCELO FERNANDES CAMARGOS¹, BRUNO PALHARES SOUZA², ELIAS JORGE FACURY FILHO³, EDEL FIGUEIREDO BARBOSA-STANCIOLLI⁴, CLÁUDIA VIEIRA SERRA⁴, ZÉLIA INÊS PORTELA LOBATO³ E RÔMULO CERQUEIRA LEITE³

1. Laboratório Regional de Apoio Animal (LARA-MG), CP 50, Pedro Leopoldo, MG, CEP 33.600-000, mcamargo@cyberpl.com.br.

2. Médico-Veterinário Autônomo.

3. Escola de Veterinária da UFMG.

4. Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

RESUMO

Neste texto relata-se o caso de uma bezerra recém-nascida que apresentava lesões nas córneas, focinho, narina e vulva quando foi encaminhada ao Hospital Veterinário

da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG). O diagnóstico foi de infecção simultânea pelo vírus da diarreia bovina a vírus e por *Babesia bovis*.

PALAVRAS-CHAVE: Vírus da diarreia bovina a vírus, bezerra recém-nascida, *Babesia bovis*.

SUMMARY

SIMULTANEOUS INFECTION OF BOVINE VIRUS DIARRHEA VIRUS AND *BABESIA BOVIS* IN A NEW-BORN CALF

A newborn calf showing lesions in the corneas, snout, nostril and vulva was admitted in the Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de

Minas Gerais (EV-UFMG). It was diagnosed with simultaneous infection with the bovine virus diarrhea virus and *Babesia bovis*.

KEY WORDS: Bovine virus diarrhea virus, new-born calf, *Babesia bovis*.

INTRODUÇÃO

O vírus da diarreia bovina a vírus (BVDV) é um vírus RNA, envelopado, da família *Flaviviridae*, gênero *Pestivirus* (THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2002). O BVDV apresenta distribuição mundial, e infecções em bovinos são comuns, o que pode ser evidenciado pelo alto nível de animais soropositivos na população bovina (MEYLING et al., 1990).

A infecção de bovinos pelo BVDV pode levar a uma grande diversidade de manifestações clínicas com surtos de diarreia, principalmente em bo-

vinos de 6 a 18 meses de idade (DONIS, 1989; BROWNLIE, 1990), entretanto, na maioria dos casos descritos, a infecção é inaparente (AMES, 1986; BROWNLIE, 1990). A infecção fetal no primeiro trimestre de gestação pode resultar em morte embrionária ou fetal seguida por absorção, mumificação ou aborto, com a expulsão do feto ocorrendo logo em seguida ou vários meses mais tarde (BIELEFELDT-OHMANN, 1995). A infecção com cepas não-citopatogênicas do BVDV em vacas com 30 a 120 dias de gestação pode levar ao desenvolvimento de imunotolerância nos fetos à cepa do BVDV que os infectou e ao nascimento de bezerros persistentemente

infectados (PI). Esses bezerros são virêmicos, eliminam o vírus continuamente em todas secreções e excreções corporais, podem parecer saudáveis e têm uma grande importância epidemiológica, pois normalmente são a principal fonte de vírus para a população bovina. Os animais PI, quando infectados por uma cepa citopatogênica do BVDV, podem apresentar uma forma esporádica da doença, conhecida como doença das mucosas, que ocorre na maioria dos casos entre os seis meses e os dois anos de idade e é caracterizada por diarreia profusa, às vezes sanguinolenta e freqüentemente seguida de erosões na mucosa digestiva (BROWNLIE, 1985; BAKER, 1995). Infecções transplacentárias entre os dias 100 e 150 da gestação podem resultar em malformações congênitas. No entanto, malformações fetais observadas em bovinos podem ter origem em infecções no primeiro trimestre de gestação, fase de diferenciação dos órgãos e sistemas (BIELEFELDT-OHMANN, 1995). Sinais clínicos como incapacidade de equilíbrio, de locomoção, tremores, nistagmo, alopecia, cegueira e ceratite intersticial levando à opacidade da córnea são comumente observados (DONIS, 1989). Infecções agudas pelo BVDV e a utilização de vacinas vivas modificadas para BVDV podem levar à imunossupressão no hospedeiro (ROTH & KAEBERLE, 1983; POTGIETER, 1988).

No Brasil, o primeiro caso clínico foi descrito por CORREA et al. (1968), e o vírus foi isolado pela primeira vez por VIDOR (1974). Posteriormente, dados clínicos e sorológicos indicaram que o BVDV está amplamente difundido no rebanho bovino brasileiro (SOARES & PEREIRA, 1974; CASTRO et al., 1992, 1993; FIGUEIREDO et al., 1997; MELO et al., 1997).

FIGURA 1. Visão lateral da bezerra encaminhada à EV-UFMG. Observar secreção ocular e cauda levantada devido às lesões na vulva.



Observar secreção ocular e cauda levantada devido às lesões na vulva.

CASUÍSTICA

Quatro bezerras mestiças (Girolando 7/8 H/G), recém-nascidas, produtos de inseminação artificial e filhas do mesmo touro, criadas em uma fazenda produtora de leite, localizada na região de Curvelo, MG, apresentaram distúrbios clínicos com sintomatologia semelhante. Todos os casos ocorreram dentro de um período de aproximadamente três meses. Dois a três dias após o nascimento ocorria o aparecimento de lesões na córnea, focinho, narina e vulva. Na fazenda, tentou-se o tratamento da opacidade de córnea com antibiótico à base de tetraciclina, porém sem sucesso. A lesão da córnea progredia até a cegueira total e por causa disso as bezerras apresentavam piora nas condições gerais, o que levava à morte dos animais. Observaram-se também lesões cutâneas seguidas de alopecia, localizadas na região dorsal. O rebanho era vacinado regularmente contra a febre aftosa, raiva, brucelose e carbúnculo sintomático.

Uma das bezerras, com quatro dias de idade, foi encaminhada ao Hospital Veterinário da EV-UFMG com o seguinte quadro clínico: apresentava-se insegura ao caminhar, temperatura retal de 39,2°C, linfonodos submandibulares aumentados de volume, mucosas levemente congestionadas, crostas na mufla, vagina, vulva (Figura 1) e pavilhão auricular, corrimento nasal bilateral seroso (Figura 2), lesão erosiva na região ventral da língua, mucosa ocular hiperêmica, opacidade bilateral de córnea com ulceração central (Figuras 3 e 4), secreção ocular purulenta, cegueira, mucosa vaginal hiperêmica com presença de miíase, onfalite, onfaloflebite e fezes ressecadas.



FIGURA 2. Crostas no focinho, narinas e opacidade de córnea.

FIGURA 3.

Visão frontal da bezerra, apresentando corrimento nasal seroso, focinho e narinas avermelhadas e com crostas e corrimento ocular.

**FIGURA 4.**

Progressão da lesão na córnea para úlcera.

Dessa bezerra foram coletados sangue em tubos com e sem anticoagulante (ácido etileno-diamino-tetraacético-EDTA) e crostas das lesões no focinho. Do sangue sem anticoagulante, obteve-se soro, que foi utilizado na prova de neutralização viral, para detecção de anticorpos para o BVDV e para o herpes vírus bovino 1. O soro também foi utilizado na prova do antígeno acidificado tamponado (AAT) para detecção de anticorpos para *Brucella abortus* e na microaglutinação rápida para detecção de anticorpos para *Leptospira spp.* Os testes sorológicos apresentaram resultados negativos para os agentes pesquisados. Do sangue com anticoagulante obtiveram-se células mononucleares do sangue circulante (PBMC) com Ficoll-Hypaque (GIBCO-BRL) e plasma. Após extração de RNA (Trizol - GIBCO-BRL) das crostas, plasma e PBMC, realizou-se a reação em cadeia da polimerase (PCR) com iniciadores que amplificam a região UTR-5' do genoma do BVDV, obtendo-se resultado positivo a partir dos três diferentes materiais. Tentou-se o isolamento viral a partir do plasma e PBMC em cultivo de células de rim de bovino (MDBK), e não se observou a presença de efeito citopático, nem de vírus quando se coraram as células MDBK com anticorpos anti-BVDV marcados com peroxidase.

Após a internação, o animal foi acompanhado durante 15 dias, e observou-se uma recuperação das lesões, exceto da ceratite, ulceração e opacidade de córnea. Após esse período, a bezerra apresentou-se apática, com hipertermia e mucosas congestionadas. Foi realizada pesquisa de hemoparasitas no esfregaço de sangue periférico, o que revelou a

presença de hemácias parasitadas por *Babesia bovis*. Na fase terminal, o animal foi sacrificado e realizou-se necropsia. À necropsia, observou-se baço aumentado de volume e hemoglobinúria. Foram feitas impressões do baço, fígado e cérebro, onde foram encontradas formas parasitárias de *Babesia bovis*.

DISCUSSÃO

Apesar de terem ocorrido quatro casos com sintomatologia semelhante, não foi possível estabelecer a provável fonte de infecção. Mesmo considerando-se a importância dos animais PI na transmissão do BVDV, em alguns surtos de diarreia bovina a vírus não foi possível identificar animais PI (MEYLING et al., 1990), uma vez que não haviam mais doses do sêmen utilizado na fazenda e na empresa fornecedora do produto. Em infecções via sêmen podem ocorrer falha na concepção e retorno ao cio, morte embrionária (BAKER, 1995) e ocasionalmente nascem bezerros filhos PI de vacas inseminadas com sêmen de touros infectados (HOUE, 1999). O BVDV pode persistir no ambiente uterino, por até 53 dias do BVDV após inseminação artificial com sêmen infectado (ARCHBALD & ZEMJANIS, 1977). Os resultados positivo na PCR e negativo no isolamento podem ter sido causados por falhas no isolamento, pois em infecções agudas o vírus é eliminado em pequenas quantidades e por poucos dias, e em animais PI o vírus é eliminado intermitentemente (HOUE, 1999). Em infecções agudas é possível o isolamento por 3 a 10 dias, e pela PCR o genoma viral pode ser identificado por 12 a 14 dias (BROCK, 1995). A diversi-

dade antigênica do BVDV também pode prejudicar resultados de exames sorológicos, e em alguns animais com infecção aguda apresentam resultado positivo no diagnóstico por apenas dois ou três dias durante o curso de uma infecção por BVDV (BROCK, 1995). A ausência de anticorpos para o BVDV indica que o bezerro foi recentemente infectado, que era imunotolerante ou que houve uma falha no método de diagnóstico sorológico.

A ocorrência de infecção pelo BVDV em bovinos recém-nascidos imunocompetentes não é comum, já infecções durante a gestação são comuns e acarretam malformações fetais (BIELEFELDT-OHMANN, 1995). Dentre essas, foi descrita a ocorrência de uma ceratite intersticial, que pode ser confundida com opacidade de córnea (BAKER, 1995).

Em infecções agudas pelo BVDV podem ocorrer um aumento na susceptibilidade do bovino afetado para outros patógenos e um aumento na patogenicidade de patógenos co-infectantes (ROTH & KAEBERLE, 1983; POTGIETER, 1995). Já foram relatadas infecções simultâneas do BVDV com vários outros agentes, como vírus da Parainfluenza 3, vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina, *Pasteurella haemolytica*, vírus da estomatite papular, em enterites por *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, em helmintoses, metrites, mastites, actinomicose (POTGIETER, 1995) e *Neospora caninum* (BJÖRKMAN et al., 2000). Até então não havia ainda sido relatada infecção simultânea com *Babesia bovis*. Provavelmente, a infecção pelo BVDV induziu uma imunossupressão que propiciou a infecção pela *Babesia bovis*.

Por causa da complexidade na patogênese e da diversidade de apresentação de sinais clínicos, em bovinos infectados pelo BVDV, as avaliações clínica e epidemiológica, associadas ao diagnóstico laboratorial, tornam-se essenciais para diagnosticar infecções causadas por esse vírus.

REFERÊNCIAS

- AMES, T. R. The causative agent of BVD: its epidemiology and pathogenesis. **Veterinary Medicine**, v. 81, p. 848-869, 1986.
- ARCHBALD, L. F.; ZEMJANIS, R. Intrauterine infusion of the virus of bovine virus diarrhea and artificial insemination in the cow at estrus. **Veterinary Medicine Small Animal Clinics**, v. 72, n. 2, p. 221-225, 1977.
- BAKER, J. C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. **Veterinary Clinics North America: Food Animal Practice**, v. 11, n. 3, p. 425-445, 1995.
- BIELEFELDT-OHMANN, H. The pathologies of bovine viral diarrhea virus infection: a window on the pathogenesis. **Veterinary Clinics North America: Food Animal Practice**, v. 11, n. 3, p. 447-476, 1995.
- BJÖRKMAN, C.; ALENIUS, S.; EMANUELSSON, U.; UGGLA, A. Neospora caninum and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion. **The Veterinary Journal**, v. 159, n. 2, p. 201-206, 2000.
- BROCK, K. V. Diagnosis of bovine viral diarrhea virus infections. **Veterinary Clinics North America: Food Animal Practice**, v. 11, n. 3, p. 549-561, 1995.
- BROWNLIE, J. Clinical aspects of the bovine virus diarrhoea/mucosal disease complex in cattle. **In Practice**, v. 7, n. 6, p. 195-202, 1985.
- BROWNLIE, J. The pathogenesis of bovine viral diarrhea virus infections. **Revue Scientifique et Technique OIE**, v. 9, n. 1, p. 43-59, 1990.
- CASTRO, R. S.; LEITE R. C.; ABREU J. J., LAGE, A. P.; FERRAZ, I. B. F.; LOBATO, Z. I. P. Prevalence of antibodies to selected viruses in bovine embryo donors and recipients from Brazil, and its implications in international embryo trade. **Tropical Animal Health Production**, v. 24, n. 3, p. 173-176, 1992.

- CASTRO, R. S.; MELO, L. E. H.; ABREU, S. R. O.; MUNIZ, A. M. M., ALBUQUERQUE, A. P. S. Anticorpos neutralizantes contra pestivírus em soros bovinos do estado de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n. 11, p. 1327-1331, 1993.
- CORREA, W. M.; ZEZZA, N. L.; BARROS, H. M.; GOTTCHARLK, A. F. Nota clínico-patológica de uma enfermidade das mucosas em São Paulo. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 35, p. 141-151, 1968.
- DONIS, R. O. Bovine viral diarrhea: the unraveling of a complex of clinical manifestations. **The Bovine Proceedings**, v. 20, p. 16-22, 1989.
- FIGUEIREDO, H. C. P.; VIEIRA, T. R.; LAGE, A. P. et al. Prevalência de anticorpos contra o vírus da diarréia bovina a vírus (VDBV) em Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 21, p. 11-15, 1997.
- HOUE, H. Epidemiological features and economic importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. **Veterinary Microbiology**, v. 64, n. 2-3, p. 89-107, 1999.
- MELO, C. B.; OLIVEIRA, A. M.; FIGUEIREDO, H. C. P.; LEITE, R. C.; LOBATO, Z. I. P. Prevalência de anticorpos contra herpesvírus bovino-1, vírus da diarréia bovina a vírus e vírus da leucose enzoótica bovinos em bovinos do estado de Sergipe, Brasil. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 21, n. 2, p. 160-161, 1997.
- MEYLING, A.; HOUE, H.; JENSEN, A. M. Epidemiology of bovine virus diarrhoea virus. **Revue Scientifique et Technique OIE**, v. 9, n. 1, p. 75-93, 1990.
- POTGIETER, L. N. D. Immunosuppression of cattle as a result of bovine viral diarrhea infection. **Agriculture Practice**, v. 9, p. 7-14, 1988.
- POTGIETER, L. N. D. Immunology of bovine viral diarrhea virus. **Veterinary Clinics North America: Food Animal Practice**, v. 11, n. 3, p. 501-520, 1995.
- ROTH, J.; KAEBERLE, M. L. Suppression of neutrophil and lymphocyte function induced by a vaccinal strain of bovine viral diarrhea virus with or without the administration of ACTH. **American Journal Veterinary Research**, v. 44, n. 12, p. 2366-2372, 1983.
- SOARES, R. A.; PEREIRA, D. A. C. Neutralizing antibodies against bovine viral diarrhea-mucosal disease virus in cattle sera from São Paulo, Brazil. **Revista Microbiologia**, v. 5, p. 1-5, 1974.
- THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTV>> Acesso em: 18 set.
- VIDOR, T. Isolamento e identificação do vírus da doença das mucosas no Rio Grande do Sul. **Boletim Instituto Pesquisas Desidério Finamor**, v. 2, p. 51-58, 1974.